

# JP2000507353T

Patent number: JP2000507353T

Publication date: 2000-06-13

Inventor:

Applicant:

Classification:

- international: G01N33/53; G01N33/538; G01N33/58; G01N33/53;  
G01N33/536; G01N33/58; (IPC1-7): G01N33/543;  
G01N21/78; G01N33/543

- european: G01N33/53B; G01N33/538; G01N33/58H

Application number: JP19970534026T 19970322

Priority number(s): DE19961011347 19960322; WO1997EP01469  
19970322

Also published as:



WO9736168 (A1)

EP0888534 (A1)

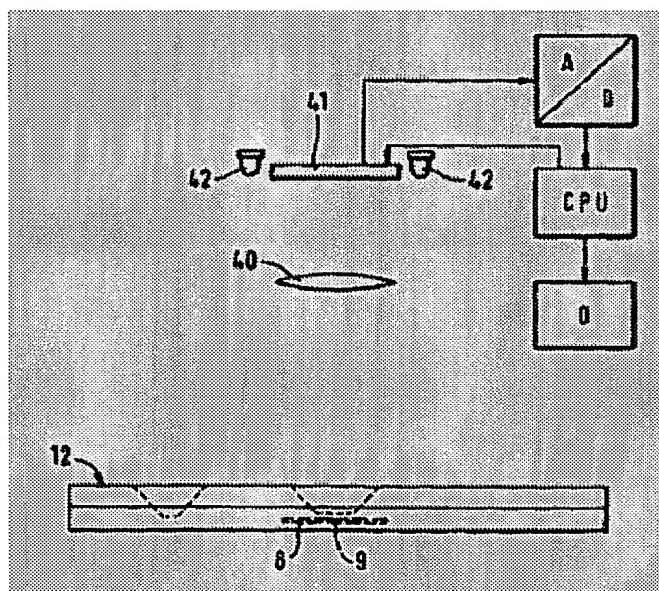
DE19611347 (A1)

Report a data error here

Abstract not available for JP2000507353T

Abstract of corresponding document: DE19611347

The invention concerns a system for the quantitative resolved evaluation of test elements, the system comprising a test element mounting which positions the test element, a test element with a sample-charging zone and a detection zone, a lighting arrangement, a sensor array, a converter, an evaluator unit for evaluating the digital signals, and a display for displaying the evaluation results.



Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2000-507353

(P2000-507353A)

(43) 公表日 平成12年6月13日 (2000.6.13)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テーマコード* (参考)
G 0 1 N 33/543	5 2 1	G 0 1 N 33/543	5 2 1
21/78		21/78	B
33/543	5 9 5	33/543	5 9 5

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 28 頁)

(21) 出願番号 特願平9-534026  
 (86) (22) 出願日 平成9年3月22日 (1997.3.22)  
 (85) 翻訳文提出日 平成10年9月21日 (1998.9.21)  
 (86) 国際出願番号 PCT/EP 97/01469  
 (87) 国際公開番号 WO 97/36168  
 (87) 国際公開日 平成9年10月2日 (1997.10.2)  
 (31) 優先権主張番号 1 9 6 1 1 3 4 7 . 4  
 (32) 優先日 平成8年3月22日 (1996.3.22)  
 (33) 優先権主張国 ドイツ (DE)  
 (81) 指定国 EP (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, L U, MC, NL, PT, SE), JP, US

(71) 出願人 ロッシュ ディアグノスティクス ゲゼル  
 シャフト ミット ベシュレンクテル ハ  
 フツング  
 ドイツ連邦共和国、デー—68298 マンハ  
 イム  
 (72) 発明者 プラスベルク、ペーター  
 ドイツ連邦共和国、デー—69469 ヴァイ  
 ンハイム、ハメルトロックベーク 16  
 (72) 発明者 ボルデュアン、フランツ  
 ドイツ連邦共和国、デー—68165 マンハ  
 イム、フリードリッヒーカルルーシュトラ  
 ーセ 2  
 (74) 代理人 弁理士 朝日奈 宗太 (外1名)

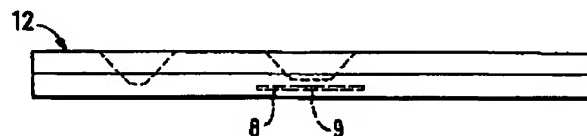
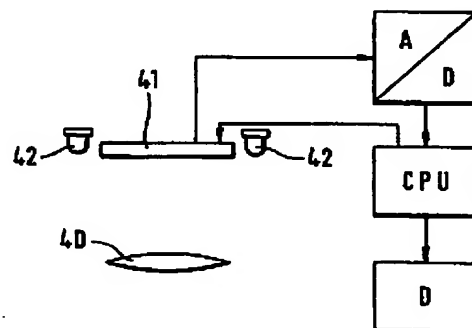
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 テスト要素用定量的分析評価システム

## (57) 【要約】

本発明は、テスト要素を位置決めするテスト要素ホルダ、試料添加ゾーンおよび検出ゾーンを有するテスト要素、照射装置、センサアレー、変換器、デジタル信号を評価するために評価ユニットおよび評価結果を表示する表示装置からなるテスト要素の位置分析定量評価システムに関する。

Fig. 5



**【特許請求の範囲】**

1. a) テスト要素を位置決めするテスト要素用ホルダ、  
b) 分析物に特異的に結合する標識物質を含む試料添加ゾーンと、分析物と標識物質から形成される複合体を固定化するために使用される領域を含む検出ゾーンとを有するテスト要素、  
c) テスト要素の検出ゾーンに光を照射する照射装置、  
d) 一つの面に複数のセンサが配置されているか、または複数のセンサが一行に配置され、その線状アレーを移動装置によってセンサの列に対して横方向に移動させながら面を走査するかのいずれかのセンサアレー、  
e) アナログセンサ信号をデジタル信号に変換するための変換器、  
f) 分析物の濃度を決定するためにデジタル信号を評価する評価ユニット、  
g) 評価結果を表示するための表示装置  
からなるテスト要素の位置定量分析評価システム。
2. 分析物に結合する特異的な標識物質が分析物に対する抗体である請求の範囲第1項記載のシステム。
3. 試料添加ゾーンが、分析物に結合し、検出ゾーンに固定化しうる標識物質をさらに含む請求の範囲第1項記載のシステム。
4. 分析物に特異的に結合する標識物質の標識が金標識である請求の範囲第1項記載のシステム。
5. 分析物と標識物質との複合体を固定化するために働く物質をテスト要素の検出ゾーンに線の形態で適用する請求の範囲第1項記載のシステム。
6. 線の形態の固定化ゾーンが0.5ないし1mmの幅を有する請求の範囲第5項記載のシステム。
7. テスト要素が2つの開口部を有するハウジングに位置し、第1の開口部が試料添加ゾーンにアクセス可能であり、第2の開口部が検出ゾーンの光学的検査を可能とする請求の範囲第1項記載のシステム。
8. 照射光が、平面上に円形に配置され、検出ゾーンに照射されるように配置される4ないし30の発光ダイオードから構成される請求の範囲第1項記載のシス

テム。

9. センサアレーが少なくとも250,000センサを有する請求の範囲第1項記載のシステム。

10. 線の形態の固定化ゾーンに加えて、テスト要素が、分析物と特異的に結合しうる物質なしに分析物と特異的に結合しうる標識物質を固定化する第2の線の形態の固定化ゾーンを有する請求の範囲第5項記載のシステム。

11. テスト要素が試料添加ゾーンおよび検出ゾーンを含み、該試料添加ゾーンが分析物と特異的に結合する標識物質を含みかつ固定化ゾーンが該検出ゾーンの領域に配置され、該固定化ゾーンで分析物と標識物質との複合体が固定化され、

試料液をテスト要素の試料添加ゾーンに添加し、インキュベーションののちにテスト要素の検出ゾーンを照射装置により照射し、

検出ゾーンからの反射光または検出ゾーンの透過光をセンサアレーを用いて検出し、センサアレーが一つの面に複数のセンサを有するかまたは一列に複数のセン

サを有し、

センサアレーの信号がデジタル信号に変換され、

デジタル化されたセンサ信号を評価ユニットを用いて評価して分析物の濃度を計算し、そして分析物濃度を表示装置に示すことからなる

テスト要素の定量的評価法。

12. 照射装置がパルス制御される請求の範囲第11項記載の方法。

13. 濃度曲線を決定するために参照値として用いられる較正曲線を用いてセンサ信号を濃度値に変換する請求の範囲第11項記載の方法。

14. 線の形態の固定化ゾーンを含むテスト要素を用い、線の形態の固定化ゾーンに対して垂直に配置されたセンサアレーの列をほかの列と比較し、

テスト要素の中央における曲線から外れる列を無視し、平均された曲線を残りの曲線から計算し、さらなる評価に用いる

請求の範囲第13項記載の方法。

15. センサアレーの個別の列の信号パターンを分析し、検出信号の中央における

信号振幅が5%以下の領域を消去する請求の範囲第11項記載の方法。

16. 検出ゾーンの線の形態の固定化ゾーンに加えて、分析物と結合しない検出可能な標識物質を固定化するさらなる線の形態の固定化ゾーンを検出ゾーン内に含み、この第2の固定化ゾーンの領域が第1の固定化ゾーンの評価のための補正值として用いられるテスト要素を用いる請求の範囲第11項記載の方法。

## 【発明の詳細な説明】

## テスト要素用定量的分析評価システム

本発明は、

- a) テスト要素を位置決めするテスト要素用ホルダ、
- b) 分析物に特異的に結合する標識物質を含む試料添加ゾーンと、分析物と標識物質から形成される複合体を固定化するために使用される領域を含む検出ゾーンとを有するテスト要素、
- c) テスト要素の検出ゾーンに光を照射する照射装置、
- d) 一つの面に複数のセンサが配置されているか、または複数のセンサが一行に配置され、その線状アレーを移動装置によってセンサの列に対して横方向に移動させながら面を走査するかのいずれかのセンサアレー、
- e) アナログセンサ信号をデジタル信号に変換するための変換器、
- f) 分析物の濃度を決定するためにデジタル信号を評価する評価ユニット、
- g) 評価結果を表示するための表示装置

からなるテスト要素を使用して分析物を位置分析的  
(ortsauflösend)に定量するためのシステムに関する。

本発明は、透過測定または反射測定により定量的に評価するテスト要素の分野に関する。

従来技術において、テスト要素の検出ゾーンに光を照射し、検出ゾーンから反射する光または検出ゾーンを透過する光を統合的に測定し、その光強度から分析物の濃度を計算するテスト要素の定量的評価システムがかなり

前から知られている。この測定法では光線を個々のセンサで検出するため、検出ゾーンの情報は全体として

統合的に決定され、立体的(räumlich)に分析されない。

ヨーロッパ特許出願E P-A-0 646 784にテスト要素を評価するためのビデオシステムが述べられている。このシステムではテスト要素は使用者に

よって支持体に配置される。テスト要素の評価は予め位置決めをしないで行われるため、使用されるビデオシステムは、検出ゾーンが確実に映像画面内に入るよう、支持体全体を覆わなければならない。このシステムは、使用者が位置決めをする必要がないので、使用者には親切であるが、本来の検査対象域を評価するために用いられるビデオシステムのセンサの数が比較的少ないため、分析結果の精度は著しく劣る。テスト要素を配置する際に使用者が望む自由度を保証するには、記載の装置は大きな開口部を設けなければならず、それに伴って妨害光線が侵入するおそれがある。このように、記載されている装置は、測定される信号が大きく、高い精度が要求されない場合のみの定量的評価に適している。

ドキュメントEP-B-0 437 968およびDE 3247355には薄層クロマトグラムを評価するための装置が記載されている。DE 3247355の装置は薄層クロマトプレートを走査するためのスキャナを対象としている。個々のセンサが観測する平面エレメントの大きさは約0.05ないし0.2mmである。すでにこの特許出願でビデオシステムによる薄層クロマトグラムの評価の可能性が指摘されている。しかし、薄層プレート全体に均質な光を照射することは非常に難しく、単色

光では実質的に全く不可能と思われるので、正確に定量的評価を行なうことは困難であり、それゆえ、このシステムは排斥されている。しかし、その後のヨーロッパ特許ドキュメントEP-B-0 437 968では、薄層クロマトグラフィーの定量的評価を行なうビデオ式デンシトメータが提案されている。高速で映像を取り込むよう改良が施され、それによってシステムの変動が抑制され、評価が可能となっている。

薄層クロマトグラフィーの分野で使用されている配置は、最もよい事例で、ナノモル程度の感度を持っている。これは、薄層クロマトグラフィーで形成されるバンド幅が、各場合で使用する分析物と、とりわけ薄層プレートをコーティングする材料とに著しく依存することから生ずる。同じ材料を使用しても、ロットに特異的な変動によってバンド幅と位置は変動する。そのうえ、クロマトグラフィー特性が極めてよく似た物質によって検出が妨害される可能性がある。薄層クロ

マトグラフィーによる物質定量のもう一つの欠点は、バンド幅が比較的広い点にある。すなわち、濃度が薄くなるほど光学的なノイズの割合が大きくなるため、この評価分析精度を低下させるのである。

本発明の目的は、濃度が極めて低い（ピコモル）臨床関係の分析物でも高い精度で定量が可能となるよう、既存のテスト要素分析用装置を改良することであった。本発明のさらなる目的は、この目的に適合し、操作が簡単で安価な装置を考案することであった。

体液中のタンパク質、医薬、麻薬または代謝物質などのきわめて低濃度の分析物を決定する場合、低濃度であ

るがゆえに、きわめて高感度の検出反応が必要であるという点が問題になる。とりわけこのような分析では、しばしば、非常によく似た化合物が分析物よりも高濃度で存在するため、それらを明確に区別しうるか、または目的とする分析物だけを選択的に検出しうる必要がある。臨床検査室では、多くの分析物に対してこのような検査を実施することは現在の技術水準に属しているが、テスト要素を用いてこのように低濃度の分析物を日常的な業務として定量分析することは従来不可能であった。しかしながら、本発明のシステムによれば、 $10^{-12}\text{mol/l}$  領域の分析物濃度でも定量的な検出が可能であることが立証された。

本発明で使用可能なテスト要素は、従来技術では免疫学的テスト要素と呼ばれている。本発明に好適なテスト要素は、担持材料上に1または複数の吸収性マトリックスを有し、それらのマトリックスは、液体がすべてのマトリックスを貫流することができるよう、担持材料上に配置されている。好適なテスト要素は試料添加ゾーンと検出ゾーンを有する。さらに、赤血球などの妨害物質を分離するためのゾーンを有していてもよい。テスト要素の担持材料は、その上にマトリックスを固定し配置全体を取扱い可能にしうるものでなければならない。したがって、担持材料は十分な剛直性を示し、実施される検査に対して化学的に不活性であることが望まれる。とりわけ、たとえばポリスチレン製のプラスチックホイル(kunststoffolien)が好適であることが明らかにされている。

担持材料上には、1または複数のマトリックスをたと



えば両面テープまたは溶融接着剤で固定することができる。マトリックスは、液体移動区間を形成し、かつ試料添加ゾーンに添加される液体が毛細管力で検出ゾーンに到達するように担持材料上に配置されている。液体の移動を助けるために液体をよく吸収する材料で構成されたいわゆる吸引ゾーンを検出ゾーンに隣接して設けるとよいことが立証されている。

試料添加ゾーンには分析物に特異的に結合する標識物質が存在している。たとえば、糖類を検出しなければならない場合、特異的に結合する物質として、対応するレクチンを使用することができる。DNAまたはRNAを検出する場合、特異的に結合しうる物質として相補DNA鎖またはRNA鎖が考慮される。特異的に結合しうる物質の中でとくに重要な物質群は、抗原である対応の分析物に結合する抗体または抗体フラグメントである。そのほかにも特異的に結合しうる物質が従来技術において知られている。

本発明によれば、特異的に結合しうる物質は標識を有する。反射または透過による光学的評価においては、発色団または発色蛍光団が考慮される。従来技術において、適合する色素がよく知られている。本発明による応用に対しては、金による標識が本発明にはとくに好適であることが明らかにされている。用語「標識」は、それ自体は無色であるが化学反応によりまたは着色物質に特異的に結合することによって検出可能な物質群も含む。

試料添加ゾーンに存在する標識物質は、試料が添加されるとできるだけ速やかかつ完全にマトリックス材料から放出され、液体の流れにのって移動することが重要で

ある。このためには、マトリックス材料としてとくに多孔性材料、繊維材料または非繊維材料が適していることが明らかにされている。具体例としては紙、フリース、多孔性プラスチック層またはメンブランがあげられる。ガラス繊維および／またはポリエステル繊維などの合成繊維および／または合成フリース (zellwolle) を高い割合で含む繊維状のマトリックスがとくに好適であることが明らかにされている。

液体が移動する間に、検出すべき分析物と標識物質から複合体が形成され、液

体の流れとともに移動する。この複合体は液体の流れとともに検出ゾーンを通過する。検出ゾーンは、光を照射しその反射光または透過光によって検出されるゾーンである。したがって、検出過程が妨害を受けないためには、検出ゾーンはできるだけ光学的に均質であることが要求される。もし不均質であったとしても、検出反応の前後で均質性に变化がない限り、不均質性はある程度まで分析時に考慮することは可能である。しかし検出ゾーンが湿潤してから初めて現れるような光学的不均質は避けなければならない。

既に試料添加ゾーンについてあげた材料も、検出ゾーンの材料として好適である。検出ゾーンは、分析物と標識物質から形成される複合体の固定化に利用される領域を有する。この領域は、複合体と結合する物質を検出ゾーンに適用することによって製造することができる。複合体と結合する物質は、流れの方向に対してこれを横切るように線状または細い帯状に適用するとよいことが明らかにされている。分析物の濃度がおよそ  $10^{-12} \text{ mol/l}$  の場合、線の幅は10分の数ミリメートルないし数

ミリメートル、好ましくは0.5mmないし1mmが非常に好適であることが立証されている。複合体と結合する物質はマトリックス材料に結合しなければならず、それによって複合体の固定化が可能になる。複合体と結合する物質は、たとえばインクジェット法による細管を使うかまたはエアブラシで所望の幅に適用することができる。この領域の検出ゾーンがニトロセルロースまたはニトロセルロースエステルで構成されていれば、非常に多数の物質、とくにタンパク質または核酸がこれらに対して吸収的(absorptiv)に強く結合するため好ましいことが明らかにされている。このように、特異的に結合する物質を純粋な吸収によってマトリックスに十分な強さで結合することができる。もちろん、複合体を固定化する物質を共有結合によってマトリックスに結合することも可能である。

本発明の範囲内で利用可能なテスト要素の構造に関する情報は、EP-A-0 323 605およびEP-A-0 186 799に述べられている。これらの文献では、とくにマトリックス材料、発色団または発色蛍光団、特異的に結合する物質、分析物と標識物質から構成される複合体を固定化するための物質、

およびこのテスト要素の製造法があますことなく述べられている。

標識物質の量は分析物の量に対して過剰に用いられるのが有利であり、そうすることによって、分析物の標識物質に対する定量的な結合を評価することができる。分析物と標識物質から形成される複合体を固定化するために利用される物質は、分析結果に誤差が入るのを避けるため、標識物質にできるだけ結合しないものが望ましい。

分析物と標識物質から構成される複合体を含む試料液が固定化ゾーンを通過する間に液体から複合体が捕捉されるのに対して、結合しなかった標識物質はさらに移動する。試料添加ゾーンに添加される分析物の量または試料の量は、結合しなかった標識物質が検出ゾーンの領域からその外へ移動するのに十分な量とすべきである。そのようにすれば、分析物と結合しなかった標識物質による分析結果の誤差を避けられる。試料の量が充分でない場合、水、等張食塩溶液、界面活性剤溶液などの補助液を試料添加ゾーンに添加することができる。

本発明の範囲において、前記タイプのテスト要素を使用すれば、分析物の量、すなわち分析物と標識物質から構成される複合体の量を、比較的小さくて明確に定められた領域に濃縮することができるという利点がもたらされる。この領域では分析物の濃度が低くても、信号－雑音比の高いより好ましい信号レベルが得られる。たとえば薄層クロマトグラムの場合がそうであるように、検出すべき標識がより広い範囲に分布した時に有利になるだろう。また、分析物の標識に特異的に結合しうる物質を使用し、形成される複合体を特異的に固定化することは、分析物がその他の物質から分離されるという利点となる。

本発明によるテスト要素は、テスト要素が保持されるハウジングの中に好都合に位置する。前記ハウジングは、試料液を試料添加ゾーンに添加するための開口部と、検出ゾーンに光学的にアクセスすることができる開口部を有する。通常、前記ハウジングは下部と上部からなり、その間にテスト要素がはめ込まれている。テスト要素はハウジング内の所定の位置に位置するよう、支柱などで

確保される。ハウジングはテスト要素を機械的に安定化させ、より簡単に位置決

めできるようにし、そして、開口部を通してテスト要素の必要な位置にアクセス可能とすることに役立つ。機械的な安定性を高めるためには十分な剛性を有する材料が使用される。本発明では、ポリエチレンまたはポリスチレンなどのプラスチックがとくに対象となる。ハウジングの別の重要な利点は、使用者に対する感染の危険が軽減することである。

試料液と反応したテスト要素を評価するには、位置によって分析評価が可能な装置を使用する。この装置はテスト要素または検出ゾーンを位置決めするようにテスト要素を位置するハウジングのためのホルダからなる。たとえばホルダとして差し込みユニットを利用することができる。テスト要素を停止端部まで挿入すれば、テスト要素は平面内に位置決めされる。垂直方向に位置決めするためには、テスト要素を上から基礎台に向かって押し込むことも好ましい。

本発明にしたがうシステムは、テスト要素の検出ゾーンに光を当てるための光照射装置をさらに含む。この照射装置は波長領域の広いスペクトルを有することもできる。しかし照射装置のスペクトル幅は狭い方が好ましい。とくに発光ダイオードが有利であることが明らかにされている。たとえばハロゲンランプとスペクトルフィルタの組み合わせも適している。

照射装置は検出ゾーンに当てる光が可能な限り均質になるように取り付けられる。これは、検出ゾーンの面に平行な平面上に発光ダイオードを円形に配置することによって実現され、発光ダイオードの光線円錐体は検出ゾ

ーンの平面を向いている。発光ダイオードの焦点は検出ゾーンに合わせる必要はない。

照射装置の波長領域は、標識物質の標識の吸収範囲に合致するように選ぶと有利であることが示されている。金粒子で標識された赤色の物質の場合、光源には緑色の発光ダイオードが適することはよく知られている。しかしとくに青色発光ダイオードが好適である。測定値を採取している間、光の強さができるだけ一定になるよう、たとえば適当な電流でパルス制御するといったような光源制御法は、従来から知られている。この場合、測定は光パルスのプラトー層を使って実施される。

照射装置を用いて検出ゾーンを照射し、その反射光または透過光をセンサアレーで検出する。本発明によるセンサアレーは、二次元アレー、たとえばCCDアレー、または移動装置によってセンサの列に対して横方向に移動する線状アレーのいずれかであって、面上を走査する。二次元センサアレーはビデオカメラに使用されているためにすでに比較的安く入手できる。本発明にしたがう好適なアレーは、少なくとも250,000個の単位センサを有するべきである。検出ゾーンの大きさが1 cm×1 cmの場合、位置分析能はあらゆる方向に対して約0.1mmである。分析能を上げることは評価精度にとって有利に働く。

線状アレーを使用する場合は、古いタイプの移動装置によって、センサ列に対して横方向にセンサアレーを移動させることもできるが、光学的なアレンジメントによって検出ゾーンの個々の縞(streifen)を線状アレー上に結像することも可能である。これには、たとえばDE 3

247355による装置が適している。P 19520606. 1にしたがう装置もとくに有効に用いることができる。しかし、二次元センサアレーは、装置に可動部分を必要としない利点がある。しかし、1列当たり数1000個の像点を分析しなければならない場合は、一次元アレーの方が格段に値段が安く、制御も容易である。

本発明の本質部分は、検出ゾーン、とりわけ固定化ゾーンを囲む領域で位置分析評価が十分な数のセンサで行われる点にある。このためには、個々のセンサが十分な数だけ必要であるばかりか、検出ゾーンの正しい像がセンサアレーに結像される必要がある。検出ゾーンの像は、可能な限りセンサアレーの面または線状アレーによる走査面を満たすようにすべきである。本発明にしたがう配置は、薄層クロマトグラムの定量的評価と比較して、検出可能な信号の現れる領域が固定化ゾーンによって予め決められるという利点を持つ。それゆえ、センサアレーが最適に利用されるように、検出ゾーンとセンサアレーの大きさ、および光学的結像手段を整合することができる。それは通常、検出ゾーンをセンサアレー上に結像するために弱い縮小光学系(schwache Verkleinerungsoptik)を用いることで実現される。レンズを有する光学系の従来のデザインに加えて、一方の端の断面が

検出ゾーンの大きさと形に合致し、他方の端の断面がセンサアレーの大きさと形に合致する複数の光伝導ファイバーからなる画像変換器を使うと有利であることが明らかにされている。このような画像変換器は、たとえばスコット (Schott) 社やガリレオ・エレクトローオプティクス・コーポレーション (Galileo Electro-Optics Corporation) から入手す

ることができる。

本発明にしたがうシステムで反射光による評価を実施する場合、照射装置を画像システムの周辺に配置するのが好ましい。たとえば、レンズの周囲に発光ダイオードを円形に集めて配置することができる。発光ダイオードをこのように配置することで、照射の均質性は改善される。4ないし30個の発光ダイオードが好適であることが明らかにされている。

本発明にしたがうシステムは、センサのアナログ信号を変換するためにこの信号をデジタル信号に変換する変換器を備えている。このような変換器は従来技術でよく知られており、通常、アナログーデジタル変換器と称されている。センサのデジタル信号は評価装置、一般的にはマイクロコンピュータで評価される。

本発明にしたがうテスト要素においては検出信号の分布が存在し、それは基本的には固定化ゾーンの形態によって決定される。標識物質の濃度は、試料添加ゾーンに面する領域では大きいのに対して、吸引マトリックスに向かって減少する。統合的な測定はこの種のテスト要素の正確な定量的評価に充分ではないことがわかっている。それに対して、本発明による位置分析評価ではきわめて正確な定量的評価が可能であることが示されている。本発明にしたがう評価では、各センサの信号が物質濃度に変換され、個別の測定から物質の総量が求められる。テスト要素に添加された試料の量が分かっているれば、分析物の濃度が決定できる。位置分析的測定の利点は、濃度と拡散反射または透過との間に直線関係がなくても、それを考慮に入れることができる点にある。この評価の精度

は、センサアレーの個々のセンサによって検出される領域内の濃度がどの程度一定であるかに依存する。さらに、前記テスト要素を評価する場合、その評価のさ

らなる利点は、固定化ゾーンの形態によって標識物質の分布曲線が実質的に予め決められる、ということである。それゆえ、測定値に基づいてスプライン関数を適合させることができ、その結果、固定化された標識物質量を計算する時、個々の測定値を補間することが可能になる。このことは、個々のセンサによって検出される面内部の標識物質の濃度または量が比較的大きく変動することを示唆しており、2つの隣接するセンサの信号が比較的離れている時に、とくに分析精度を向上させる。

検出すべき物質および特異的に結合する標識物質から形成される複合体を固定化するために、対称性が高いゾーン、たとえば線を選ぶなら、この対称性を考慮することで分析精度の改善が可能になる。固定化ゾーンを線として形成する場合、線に対して垂直に走るセンサアレーに平行な列に沿って信号は非常によく似たパターンを示すことになる。この情報に基づけば、信号パターンがひずむテスト要素の辺縁ゾーンは、認知されて消去される。こうした消去は、信号の最大振幅(signal hubs)が、検出信号の中心部(検出線の中央部)における信号の最大振幅の5%以下である列に対して実施すれば有効である。さらに、テスト要素の不均質性も認知、考慮または消去することができる。この指標に基づいて信号パターンが適合するセンサアレーの列の位置がわかれば、分析装置はこの列と等価な行を平均して、それに基づいてそのあとに続く計算を実行するので、テスト要素の分析は

加速できる。

それに対して、行の間で平均された信号は、検出線に対して垂直方向の信号パターンを反映する列を再び表示する。一般に、分析用テスト要素には紙やフリースなどの明るい材料が使用され、検査の実施で検出ゾーンは着色する。それゆえ、拡散反射の測定によって決定される分析用テスト要素に沿った信号パターンは検出ゾーンの位置で最小となる。

テスト要素の位置分析評価の別の利点は、バックグラウンドの補正が可能であるという点である。テスト要素を統合的に分析する方法では、検出すべき物質に関係がない検出ゾーンの着色によって生じるバックグラウンドは一定なものとし

てしか考慮できない。それに対して、本発明の位置分析評価では信号の分布に基づいて分析される領域を適切に限定することができるので、選択した領域外のバックグラウンドは測定結果に影響を及ぼさない。評価領域を限定するには、測定した信号曲線を解析し、決められた閾値より上および下にあるセンサの信号は後で行なう計算で考慮の対象としない。評価領域を限定するための指標として、閾値の代わりに信号曲線の傾きを使用することもできる。あるいは、評価領域を限定するために、拡散反射曲線における最小点までの最大距離が設定される。関数曲線によって近似することができる既に上で述べた信号パターンに基づいてこの関数曲線を外挿(Extrapolation)し、閾値の補正に基づいてセンサ信号が考慮されなかった領域を把握することもできる。

評価に供せられるセンサ信号または関数曲線によって決定される値から、評価装置によって物質量が決定され

る。それは通常、センサ信号を、濃度が分かっている分析物について決定された信号と比較する形で行われる。拡散反射値または透過値をそれぞれの物質質量または物質濃度に割り当てることができる検量線の作製は従来技術において広く知られている。

本発明をつぎの図によってより詳細に説明する：

図1：テスト要素の構造

図2：テスト要素を内蔵するハウジングの上面図

図3：テスト要素を内蔵するハウジング断面図

図4：ハウジングが差し込まれたホルダ

図5：本発明にしたがうシステムの断面図

図6：コントロールライン(Kontrollstrich)に対するテスト要素の信号曲線

図1は、担持材料(5)に試料添加ゾーン(1)、赤血球分離ゾーン(2)、検出ゾーン(3)および吸引ゾーン(4)を設けた分析要素を示す。試料添加ゾーン(1)には試料添加マトリックス(6)が配置され、部分的に赤血球分離マトリックス(7)と重なっている。その赤血球分離マトリックス(7)は、検出マトリックス(8)(検出ゾーン)、その上に固定化物質が線の形態(9)で適用されている、といくら



か重なっている。吸引マトリックス(10)は検出マトリックス(8)と多少重なっている。試料添加マトリックス(6)には、検出すべき分析物と複合体を形成するために必要なすべての試薬が収容されている。ここに例として紹介するテスト要素は、全血からのトロポニンTの濃度の決定に使用される。トロポニンTは心筋の壊死を判定するための重要な指標である。この場合には試料添加ゾーンは重ね合わせた2つのフリースからなり、その一方には金で標識

したトロポニンTに対する抗体が含浸させてあり、もう一方のフリースにはビオチン化したトロポニンTに対する抗体が含まれている。検出ゾーンの内部にストレプトアビジンので構成される線(9)が付されている。

図2はテスト要素を内蔵するハウジング(12)の上面図を示す。ハウジングには試料添加開口部(13)と検出開口部(14)の2つの開口部が設けてある。両開口部はテスト要素に向かって狭くなっている。さらに、ハウジングには扱いやすいように把持部(15)が付いている。

図3はテスト要素を内蔵するハウジングの断面を示す。テスト要素はハウジングの下部(17)に取り付けられている。ハウジングの上部(16)はハウジング支持部(18)でハウジング下部(17)の受け台(19)に乗り、それによってハウジングの下部と上部を所定の距離に保つことができる。テスト要素は位置が動かないよう受け台(19)と差し込み溝(20)で固定されている。その結果、試料添加ゾーンと検出ゾーンをハウジングの開口部に対して正しい位置に保持することができる。

図3には、さらに、ピペット(22)を使って試料液(23)を試料添加ゾーンに添加する様子を示す。試料はマトリックス(11および26)から試料液中の分析物と結合するビオチン化した抗体および金で標識した抗体を放出する。ここで分析物と前記2種類の抗体から形成される様々な複合体は相互に平衡関係にある。検出するためには、ビオチン化した抗体と金で標識した抗体を含むこのような複合体はとくに重要である。形成された複合体を含む試料液は赤血球分離マトリックス(7)を通過して検出ゾーン(8)に達する。ここで、検出ゾーンに適用されたス

トレプトアビジンの線(9)でビオチン化抗体が固定化される。ビオチンと金標識物

を含む複合体のみが検出可能な信号に寄与する。検出ゾーン(8)の後ろには吸引フリース(10)が続いている。

図4にはテスト要素を内蔵するハウジングが差し込まれたホルダが示してある。ホルダは水平な底板(30)を持ち、底板には2つの位置決め端部(31, 32)が設けられている。固定具(33)には板バネ(34)が取り付けられてあり、ハウジング(12)を横から押している。

図5は本発明にしたがうシステムの断面を示している。検出ゾーン(8)およびとりわけ固定化の線(9)は、簡単にレンズとして概略的に示されている光学系(40)によってセンサアレー(41)上に結像される。検出ゾーンの照射は、センサアレー(41)の周囲に配置されている発光ダイオード(42)で行われる。マイクロプロセッサ(CPU)はセンサアレーを制御している。センサアレーのアナログ信号は、A/D変換器(A/D)でデジタル信号に変換され、マイクロプロセッサ(CPU)へ送られる。マイクロプロセッサでは分析物の濃度を決定するために、センサ信号の評価も行われる。分析結果は表示装置(D)に表示される。

図6はコントロールラインに対するテスト要素の信号曲線を示す。この図には165列、192行からなる二次元センサアレーのある列の信号を示す。センサアレーの各行は図のX軸に示されている。Y軸は、任意の単位で表した各センサのグレイ値(Grauwert)を示す。図6から、臨床検査に関係するトロポニンTの濃度では、コントロールラインに対する検出線の信号の振幅は比較的小さい

ことがわかる。このことは、この応用分野にとって位置的に分析した測定が不可欠であることを明らかにしている。テスト要素の辺縁部、すなわち行数が30より少ない場合、および170より多い場合、ハウジングの影が原因となって現れる辺縁効果が顕著になる。このことは、この種のテスト要素において、この効果を補正または消去できる位置分析評価を使用することが極めて重要であることを示している。

#### 符号の説明

(1) 試料添加ゾーン

(2) 赤血球分離ゾーン

- (3) 検出ゾーン
- (4) 吸引ゾーン
- (5) 担持材料
- (6) 試料添加マトリックス
- (7) 赤血球分離マトリックス
- (8) 検出マトリックス
- (9) 線の形態の固定化ゾーン
- (10) 吸引マトリックス
- (11) 金標識抗体を含浸した試料添加マトリックス
- (12)ハウジング
- (13) 試料添加開口部
- (14) 検出開口部
- (16) ハウジングの上部
- (17) ハウジングの下部
- (18) ハウジング支持部 (スペーサー)
- (19) 受け台
  
- (20) 差し込み溝
- (21) ハウジングの上部のストリップ下
- (22) ピペット
- (23) 試料液
- (26) ビオチン標識抗体を含浸した試料添加マトリックス
- (30) 底板
- (31、32) 位置決め端部
- (33) 固定具
- (34) 板バネ
- (40) レンズ系／光学系
- (41) センサアレー

【図1】

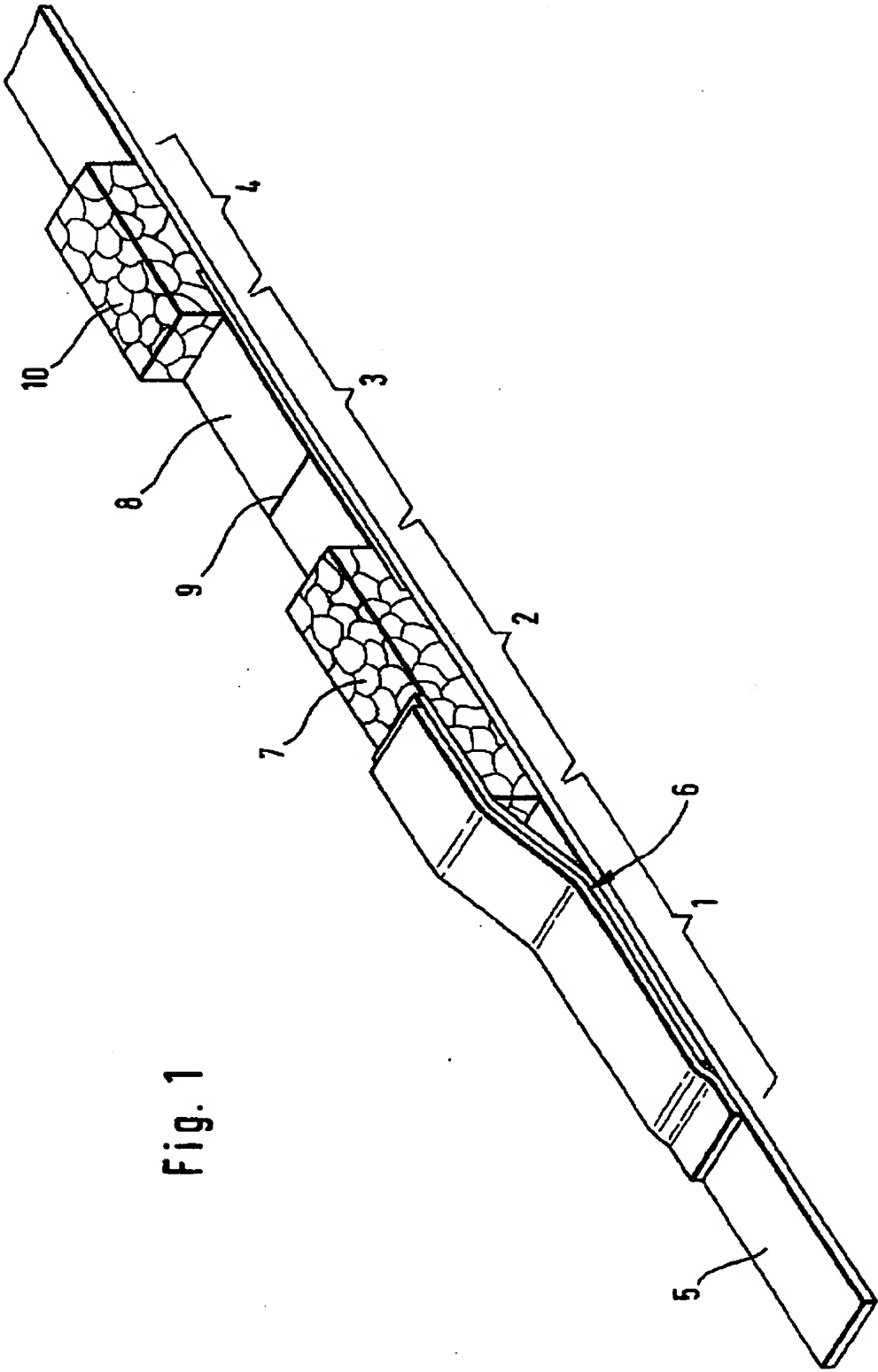
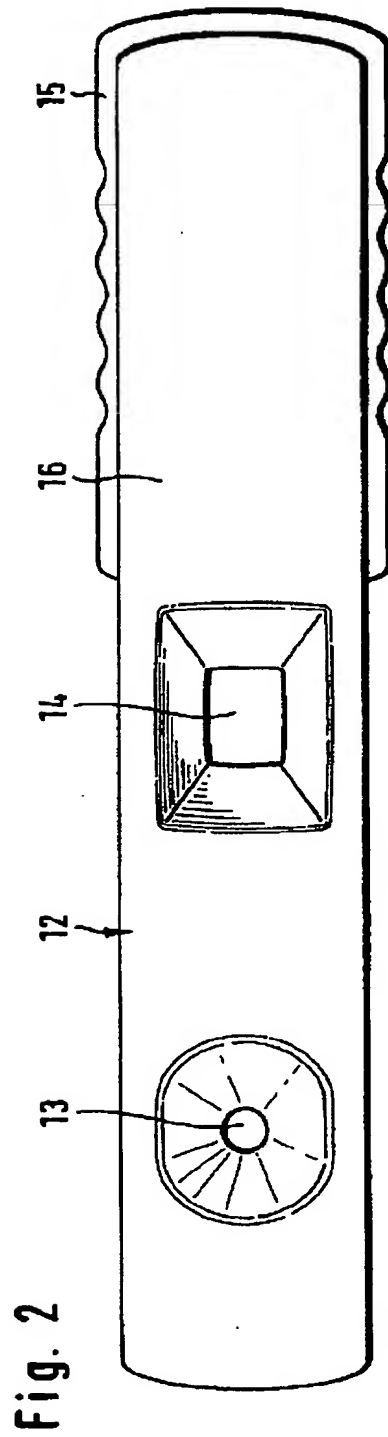
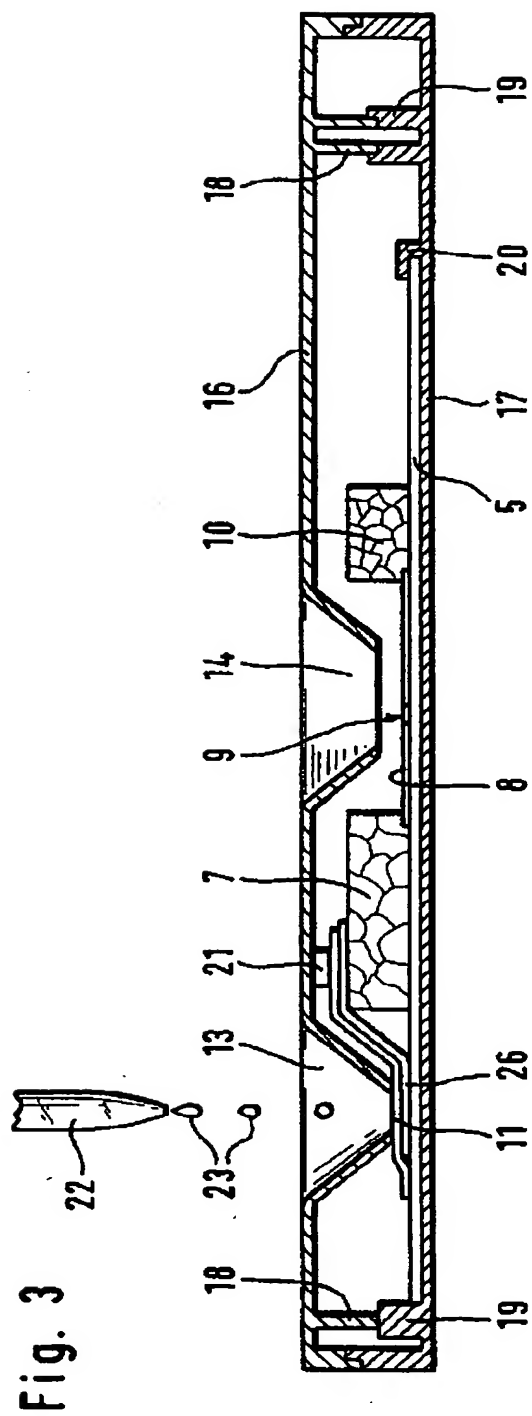


Fig. 1

【図2】

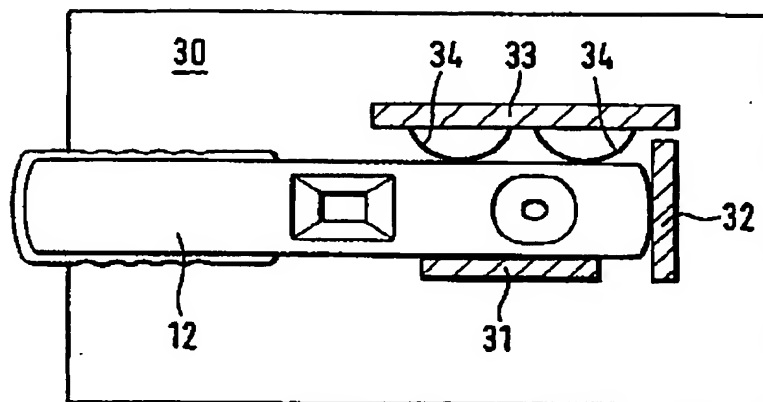


【図 3】



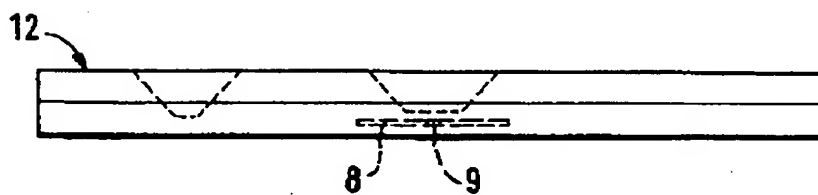
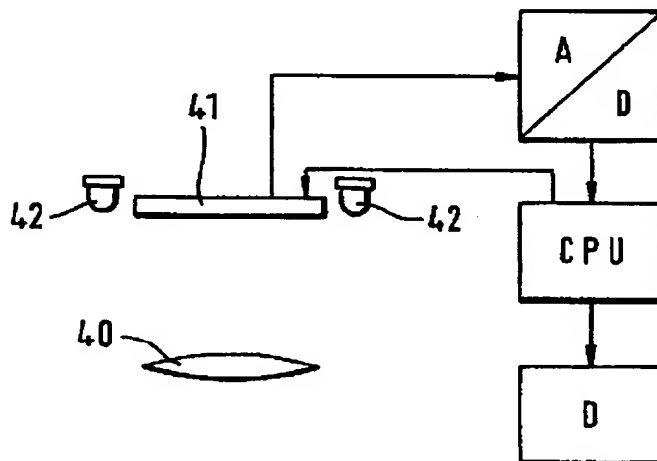
【図4】

Fig. 4



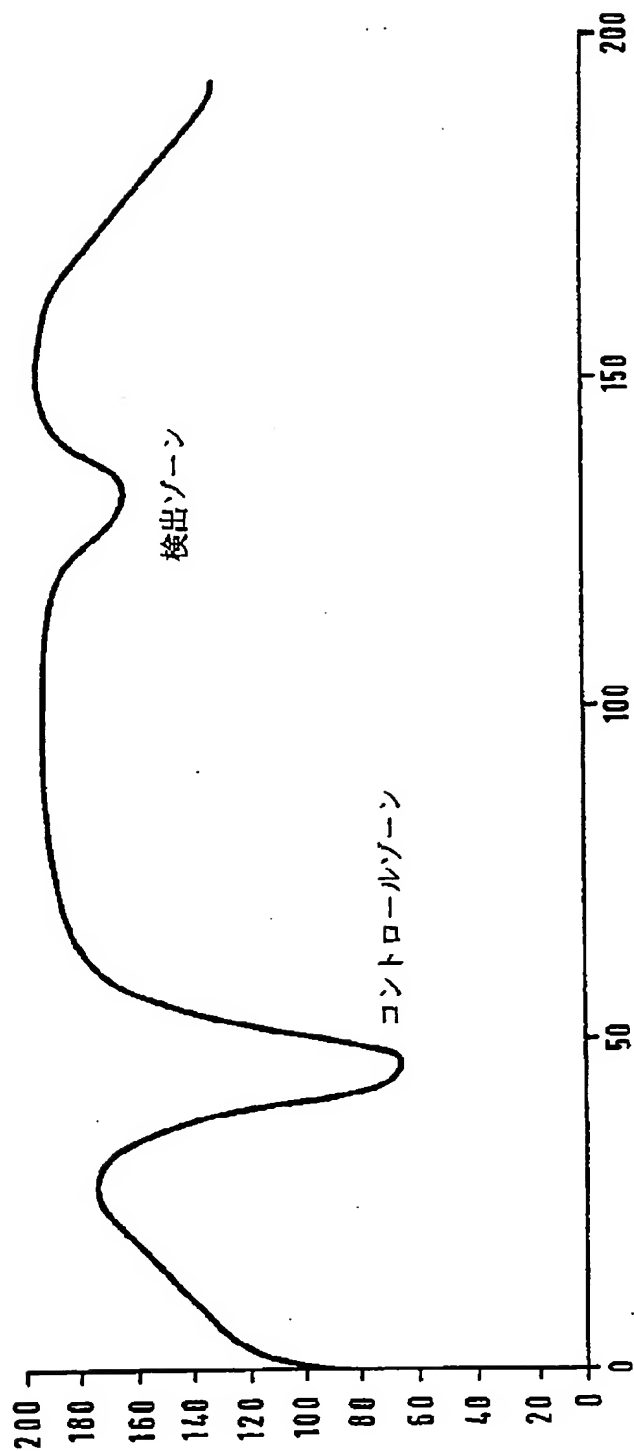
【図5】

Fig. 5



【図6】

Fig. 6





## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. Appl. No. PCT/EP 97/01469		
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC 6 G01N21/86 G01N21/59		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 6 G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DE 43 03 858 A (DRAEGERWERK AG) 11 August 1994 see column 1, line 18 - column 3, line 48; figure 1	1,11
A	EP 0 437 968 A (RES DEV FOUNDATION) 24 July 1991 cited in the application see abstract; figure 1	1,11
A	DE 32 47 355 A (MERCK PATENT GMBH) 28 June 1984 cited in the application see abstract; figure 1	1,11
A	WO 94 19767 A (E Y LAB INC) 1 September 1994 see claim 1; figure 1	1,11
-/--		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another claim or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
23 June 1997		9. 07. 97
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 3118 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-2016		Authorized officer Tabellion, M

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.  
PCT/EP 97/01469

C(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 0 323 605 A (ABBOTT LAB) 12 July 1989 cited in the application see abstract; figure 1 ---	1,11
A	EP 0 186 799 A (BEHRINGWERKE AG) 9 July 1986 cited in the application see page 3 ---	1,11
A	EP 0 618 443 A (BOEHRINGER MANNHEIM GMBH) 5 October 1994 see abstract; figure 3 ---	1,11
A	US 5 160 486 A (SCHLIPFENBACHER REINER ET AL) 3 November 1992 see abstract; figure 2 -----	1,11

Form PCT/ISA/210 (continuation of record sheet) (July 1992)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No  
PCT/EP 97/01469

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 4303858 A	11-08-94	CA 2115307 A EP 0610673 A JP 6242008 A US 5397538 A	11-08-94 17-08-94 02-09-94 14-03-95
EP 0437968 A	24-07-91	AT 125625 T CA 2033008 A DE 69021191 D DE 69021191 T ES 2076339 T IE 68523 B JP 4212043 A US 5420628 A US 5194949 A	15-08-95 17-07-91 31-08-95 07-12-95 01-11-95 26-06-96 03-08-92 30-05-95 16-03-93
DE 3247355 A	28-06-84	JP 59120939 A	12-07-84
WO 9419767 A	01-09-94	EP 0731951 A JP 8504950 T	18-09-96 28-05-96
EP 0323605 A	12-07-89	AU 2709588 A CA 1312544 A CN 1036078 A DE 3887491 D DE 3887491 T ES 2050697 T JP 1244370 A	29-06-89 12-01-93 04-10-89 10-03-94 07-07-94 01-06-94 28-09-89
EP 0106799 A	09-07-86	DE 3445816 C AU 600657 B AU 5131585 A CA 1267083 A JP 2504923 B JP 7055808 A JP 7078503 B JP 61145459 A US 4861711 A	12-06-86 23-08-90 19-06-86 27-03-90 05-06-96 03-03-95 23-08-95 03-07-86 29-08-89
EP 0618443 A	05-10-94	DE 4310583 A AU 656286 B	06-10-94 27-01-95

Form PCT/ISA/210 (patent family search) (July 1992)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Intern. Appl. No.

PCT/EP 97/01459

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0618443 A		AU 5492394 A	03-11-94
		BR 9401326 A	25-10-94
		CA 2119816 A	01-10-94
		CN 1097871 A	25-01-95
		CZ 9400736 A	19-10-94
		FI 941495 A	01-10-94
		HU 68105 A	29-05-95
		JP 2505710 B	12-06-96
		JP 6308033 A	04-11-94
		NO 941194 A	03-10-94
		NZ 260197 A	27-04-95
		SI 9400160 A	30-09-94
		US 5424035 A	13-06-95
		ZA 9402248 A	02-10-95
		-----	
US 5160486 A	03-11-92	DE 3842702 A	21-06-90
		AU 616328 B	24-10-91
		AU 4616889 A	21-06-90
		CA 2005564 A	19-06-90
		EP 0374684 A	27-06-90
		EP 0525829 A	03-02-93
		JP 8220097 A	30-08-96
		JP 2221860 A	04-09-90
		JP 2541674 B	09-10-96
		-----	

Form PCT/ISA/210 (patent family member) (July 1992)

---

フロントページの続き

- (72) 発明者 ゲンツシュ、ズサンネ  
ドイツ連邦共和国、デー——68519 フィー  
ルンハイム、ベートーベンシュトラッセ  
45
- (72) 発明者 ハール、ハンス—ペーター  
ドイツ連邦共和国、デー——69168 ヴィー  
スロッホ、ヴァルトシュトラッセ 2
- (72) 発明者 ヘンドラー、エイリッヒ  
ドイツ連邦共和国、デー——68623 ラムパ  
ータイム、ヨハーン—ステルツ—シュトラ  
ッセ 81